

深海真菌 *Trichobotrys effuse* DFFSCS021 的次级代谢产物研究^{*}

罗琴琴¹, 陈子明¹, 曾金凤², 曾玲¹, 郑翠平², 陆根兰², 王锂韞², 孙玉林^{2**}

(1. 岭南师范学院化学化工学院, 广东湛江 524048; 2. 岭南师范学院生命科学与技术学院, 广东湛江 524048)

摘要:通过多种现代化波谱手段,对深海真菌 *Trichobotrys effuse* DFFSCS021 的次级代谢产物进行挖掘。采用硅胶柱层析、Sephadex LH-20 凝胶柱层析和高效液相色谱等分离技术,对该菌株发酵产物中的化学成分进行研究,并运用核磁共振(NMR)、质谱(MS)和文献比对鉴定其化学结构。结果显示:从该菌株的发酵产物中共分离得到 5 个单体化合物,分别为 1,3-dimethyluracil (**1**)、[2*E*,7*E*]-9-oxo-2,7-decadienoic acid (**2**)、periconianones H (**3**)、botryosphaeridione (**4**)和 2-hydroxy-(4-octyloxy) benzophenone (**5**),化合物 **1—5** 均是首次从该菌株中分离得到。化合物 **3** 对 5 株肿瘤细胞株 HepG-2、Eca109、KG-1a、PC-3 和 Hep2 均未显示出细胞毒活性,仅对 HeLa 显示弱的抑制活性。实验结果不仅丰富了该菌属的化学成分类型,而且也增强了深海真菌的研究价值。

关键词:深海真菌 *Trichobotrys effuse* DFFSCS021 次级代谢 结构鉴定 细胞毒活性

中图分类号:R914.4 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2020)05-0558-06

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.20201214.006

0 引言

深海微生物对深海特殊生境(高盐、高压、低温、寡营养等)的适应,造就了其区别于陆生微生物的生物合成途径和酶促反应体系,因而具备产生具有新颖化学结构和独特生物活性代谢产物的能力,是开发天然活性药物先导化合物的资源宝库^[1]。据统计,2017 年被报道的来自微生物的海洋天然产物占总报道化合物的 57%^[2]。2018 年,张长生等^[3]着眼于生态环

境、物种多样性和应用领域等方面,指出海洋微生物的研究是一个充满着机遇和挑战的领域。真菌是海洋微生物中重要的类群之一,其代谢产物丰富,且具有新奇的化学结构以及显著的生物活性^[4],具有巨大的发展潜力。2017 年,高啸巍等^[5]对深海真菌 *Acaromyces ingoldii* FS121 次级代谢产物进行分离得到化合物 22-四烯-3-酮,该化合物在 100 μg/mL 浓度下,对 SF-268、MCF-7、NCI-H460 和 HepG-2 这 4 种肿瘤细胞株表现出显著的增殖抑制活性,其半数抑制

^{*} 广东省自然科学基金项目(2016A030307021,2017A030307029,2018A0303070005),广东省普通高校特色创新类项目(2016KTSCX083),广东省湛江市科技计划项目(2017A03023),南海海洋生物医药资源研发公共服务平台-海洋药用活性物质研究项目(2017C8B2)和岭南师范学院重点项目(LZL1811)资助。

【作者简介】

罗琴琴(1985—),女,讲师,主要从事高分子材料改性与复合材料研究。

【**通信作者】

孙玉林(1980—),男,副教授,主要从事海洋生物活性物质应用研究,E-mail:sunyulin07002@126.com。

【引用本文】

罗琴琴,陈子明,曾金凤,等.深海真菌 *Trichobotrys effuse* DFFSCS021 的次级代谢产物研究[J].广西科学,2020,27(5):558-563.

LUO Q Q, CHEN Z M, ZENG J F, et al. Studies on the Secondary Metabolites of Deep-sea-derived Fungus *Trichobotrys effuse* DFFSCS021 [J]. Guangxi Sciences, 2020, 27(5): 558-563.

率 IC_{50} 值分别为 5.3, 6.5, 12.2 和 6.1 $\mu\text{mol/L}$ 。2018年, 马新华等^[6]对南海深海沉积物来源真菌 *Aspergillus* sp. MCCC3A400414 次级代谢产物的化学成分和生物活性进行研究, 从中分离得到 5 个化合物, 即(22*E*, 24*R*)-麦角甾-5, 7, 22-三烯-3 β -醇、WIN 64821、diorcinol、9-十八碳烯酸和 9, 12-十八碳二烯酸。WIN 64821 对肿瘤细胞株 PANC-1、MCF-7、HepG-2 和 A549 表现出中等强度的细胞毒活性, 其 IC_{50} 值在 7.14—15.78 $\mu\text{mol/L}$ ^[6]。2019年, 陈闪冲等^[7]从深海真菌 *Phomopsis tersa* 的次级代谢产物中分离得到 5 α , 8 α -表二氧麦角甾-6, 22-二烯-3 β -醇和麦角甾醇, 这 2 个化合物对 SF-268、MCF-7、HepG-2 和 A549 4 种肿瘤细胞株具有一定的细胞毒活性。

虽然深海真菌的次级代谢产物结构丰富、活性广泛, 但开发程度较低, 仍存在较大的挖掘空间。真菌 *Trichobotrys effuse* DFFSCS021 分离自我国南海北部 2 403 m 深的海底沉积物中, 纯菌株菌落呈绒状, 展开, 有凹沟, 直径 2—3 cm, 中央淡粉色周围白色, 中间有小气孔。2016年, Sun 等^[8]从该菌中分离得到 3 个新的大环内酯类化合物 trichobotryside A、trichobotryside B—C, 其中 trichobotryside A 具有较强的抗生物污损活性, 对草苔虫和藤壶幼虫的半数最大效应浓度 (EC_{50}) 值分别为 7.3 和 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 。为进一步发掘结构新颖、活性显著的新型化合物, 本实验对真菌 *Trichobotrys effuse* DFFSCS021 的次级代谢产物进行研究, 以期丰富其次级代谢产物的结构类型, 为海洋药物先导化合物的开发与利用提供物质基础。

1 材料与方 法

1.1 仪器与材料

Bruker Avance DRX-500MHz 型超导核磁共振仪(内标为 TMS; 德国布鲁克仪器有限公司)、N-1210B 型(EYELA)旋转蒸发仪(上海爱郎仪器有限公司)、LC-20AD 型高效液相色谱仪(岛津企业管理(中国)有限公司)、YMC-PACKODS-A 型分析色谱柱(规格: 150 \times 4.6 mm, D. S-5 μm , 12 nm)、YMC-PACKODS-A 型半制备色谱柱(规格: 250 \times 10 mm, D. S-5 μm , 12 nm)、Bruker microTOF-Q II 高分辨电喷雾质谱仪(HR-ESI-MS)、Bruker amaZonSL 低分辨电喷雾质谱仪(ESI-MS)(布鲁克(北京)科技有限公司)、iMark 酶标仪(美国 BIO-RAD 公司)、MCO-175 型 CO_2 培养箱(日本 Sanyo 公司)、SW-CJ-2FD

型超净工作台(苏州净化设备公司)、ZF-7 型三用紫外分析仪(上海顾村电光仪器厂)、CCA-1112A 型冷却水循环装置(上海爱郎仪器有限公司)、SB-800DT 型超声波清洗器(宁波新芝生物科技股份有限公司)、Direct-Q5UV-R 型超纯水一体机(默克密理博(上海)实验设备科技有限公司)、JJ-2 型组织匀浆机(常州澳华仪器有限公司), 所用试剂均为分析纯。

深海真菌 *Trichobotrys effuse* DFFSCS021, 采自南海北部(112 $^{\circ}$ 30', 203'E, 18 $^{\circ}$ 1.654'N) 2 403 m 深的海底沉积物中, 经分离培养纯化后得到纯菌株保藏于中国科学院海洋微生物中心。

1.2 方法

1.2.1 菌株鉴定

深海真菌 *Trichobotrys effuse* DFFSCS021 的总 DNA 按照文献[9]方法提取, 设计引物对总 DNA 中的 ITS 序列进行 PCR 扩增, 回收纯化扩增产物并连接到 PCR21 载体(Invitrogen)中。16S rRNA 基因序列送生工生物工程(上海)股份有限公司测定, 将测得的 16S rRNA 基因序列进行 BLAST 分析, 发现其与 *T. effusa* isolate 1179 (accession No. KJ630313) 相似度为 99%。

1.2.2 菌株的发酵培养

从 PDA 固体培养基平板上, 用接种环刮取 2 环该菌株的孢子, 接种于盛有 PDA 液体培养基的三角锥形瓶中, 置于摇床上 180 r/min、28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养 3—7 d, 待三角锥形瓶中菌丝体生长成球形黄豆粒大小时, 将生长好的种子液接种到含 80 g 大米培养基的 1 L 三角瓶中, 每瓶接种 10 mL, 共接种 50 瓶, 28 $^{\circ}\text{C}$ 静置 30 d。

PDA 液体培养基: 马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 海盐 36 g, 蒸馏水溶解定容至 1 000 mL。固体培养基在此基础上添加 20 g 琼脂。

大米培养基: 大米 80 g, 酵母膏 0.4 g, 葡萄糖 0.4 g, 海盐 3.6 g, 蒸馏水溶解定容至 120 mL。

1.2.3 高效液相色谱(HPLC)分析及半制备

分析条件: 流速为 1 mL/min, 流动相为 MeOH/ H_2O 体系, 检测波长为 210, 254, 280, 360 nm, 柱温箱温度为 35 $^{\circ}\text{C}$, 进样量为 5 μL 。半制备条件: 流速为 3 mL/min, 流动相为 MeOH/ H_2O 体系, 检测波长为 210, 254, 280, 360 nm, 柱温箱温度为 35 $^{\circ}\text{C}$, 进样量为 60 μL 。分析时根据化合物的极性来调整 MeOH/ H_2O 的比例, 以达到半制备的目的。

1.2.4 发酵产物的提取与分离

将发酵好的大米培养基用 80% 丙酮-水浸泡,接着用组织匀浆机破壁,之后超声 30 min,用布氏漏斗抽滤,旋转蒸发除去丙酮,将剩下的水相再用乙酸乙酯进行萃取($V_{\text{乙酸乙酯}}:V_{\text{水}}=2:1$),静置分层,取上层乙酸乙酯相进行浓缩称量,共得到浸膏 30 g。

将乙酸乙酯萃取的浸膏 30 g 经硅胶(100—200 目)柱层析,以氯仿/甲醇(体积比 1:0—0:1)进行梯度洗脱,最后合并为 7 个流分(Fr 01—Fr 07)。

流分 Fr 05 (4 g)经硅胶(200—300 目)柱层析,以氯仿/甲醇(体积比 20:1—1:1)梯度进行洗脱,得到 4 个亚流分(Fr 0501—Fr 0504),亚流分 Fr 0502 (280 mg)经 Sephadex LH-20 凝胶柱层析得到 4 个亚流分(Fr 050201—Fr 050204),亚流分 Fr 050204(80 mg)经半制备 HPLC 进一步纯化得到化合物 **1** ($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{水}}=10:90$, $t_{\text{R}}=20.5$ min, 26 mg)。

流分 Fr 03 (7.5 g)经硅胶(200—300 目)柱层析,以氯仿/丙酮(体积比 50:1—0:1)梯度进行洗脱,得到 4 个亚流分(Fr 0301—Fr 0304),亚流分 Fr 0302 (1 g)经 Sephadex LH-20 凝胶柱层析得到 4 个亚流分(Fr 030201—Fr 030204),亚流分 Fr 030201 (65 mg)经硅胶(200—300 目)柱层析,以氯仿/丙酮(体积比 20:1)等度进行洗脱,得到化合物 **2** (13.5 mg)。

流分 Fr 04 (0.7 g)经硅胶(200—300 目)柱层析,以氯仿/甲醇(体积比 20:1—0:1)梯度进行洗脱,得到 4 个亚流分(Fr 0401—Fr 0404),亚流分 Fr 0401 (244.1 mg)经 Sephadex LH-20 凝胶柱层析得到 3 个亚流分(Fr 040101—Fr 040103),亚流分 Fr 040103 (45.5 mg)经半制备 HPLC 进一步纯化得到化合物 **4** ($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{水}}=35:75$), $t_{\text{R}}=30.5$ min, 4.9 mg)。亚流分 Fr 0402 (122.6 mg)经半制备 HPLC 进一步纯化得到化合物 **3** ($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{水}}=33:77$, $t_{\text{R}}=28$ min, 15 mg)。

流分 Fr 02 (0.52 g)经硅胶(200—300 目)柱层析,以石油醚/氯仿(体积比 50:1—0:1)梯度进行洗脱,得到 3 个亚流分(Fr 0201—Fr 0203),亚流分 Fr 0201 (175.9 mg)经半制备 HPLC 进一步纯化得到化合物 **5** ($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{水}}=85:15$, $t_{\text{R}}=44$ min, 3.1 mg)。

1.2.5 细胞毒活性测定

参照文献[10]的方法,取对数生长期的肿瘤细

胞,将细胞密度调至 2×10^5 个/mL,按每孔 200 μL 加到 96 孔细胞培养板中,放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中并通入体积分数 5% CO_2 ,培养 4 h。化合物样品分别设定 5 个浓度梯度,每个浓度设 3 个重复,同时设阳性、阴性对照,每孔肿瘤细胞中分别加样品液或空白液 2 μL ,再培养 72 h。然后每孔加四甲基偶氮唑蓝(MTT)液 10 μL ,继续培养 4 h,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、2 000 r/min 条件下,离心 8 min,吸去上清液。每孔分别加入二甲基亚砜(DMSO)100 μL ,在微量振荡器上振荡 15 min,至结晶完全溶解后,用酶标仪测定每孔在 570 nm 处的吸光值(OD 值)。取 3 孔平均 OD 值,按对细胞增殖的抑制率($\text{IR}, \%$) = $[(\text{OD}_{\text{空白}} - \text{OD}_{\text{样品}}) / \text{OD}_{\text{空白}}] \times 100\%$,计算样品 IR,并采用 bliss 法计算出半数抑制率 IC_{50} 。

2 结果与分析

2.1 化合物结构鉴定

化合物 **1—5** 的结构如图 1 所示。

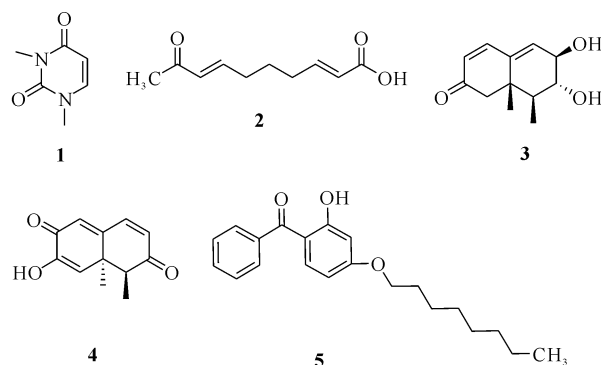


图 1 化合物 **1—5** 的结构

Fig. 1 Structures of compounds **1—5**

化合物 **1**: 白色无定形粉末。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ_{H} 7.12 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-6), 5.74 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-5), 3.80 (3H, m, 1-N CH_3), 3.35 (3H, m, 3-N CH_3)。 ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 162.3 (s, C-4), 151.4 (s, C-2), 144.6 (d, $J=5.5$ Hz, C-6), 102.4 (d, $J=5.5$ Hz, C-5), 36.7 (s, 3H), 28.2 (s, 3H)。低分辨质谱 (+)-ESIMS 给出准分子离子峰 m/z 141.1 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ 和 281.1 [$2\text{M}+\text{H}$] $^+$, (-)-ESIMS 给出准分子离子峰 m/z 139.3 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ 。上述氢谱和质谱数据与文献报道的数据[11]一致,故鉴定该化合物为 1,3-dimethyluracil。

化合物 **2**: 无色油状物。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ_{H} 7.05 (1H, dd, $J_1=7.0$ Hz, $J_2=15.5$ Hz,

H-3), 6.78(1H, dd, $J_1 = 6.5$ Hz, $J_2 = 16.0$ Hz, H-7), 6.09(1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8), 5.85(1H, d, $J = 15.5$ Hz, H-2), 2.29(2H, m, H-4), 2.28(2H, m, H-6), 2.26(3H, s, H-10), 1.67(2H, m, H-5); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ_{C} 198.5 (C, C-9), 170.6 (C, C-1), 150.8 (CH, C-3), 146.9 (CH, C-7), 131.8 (CH, C-8), 121.2 (CH, C-2), 31.7 (CH₂, C-4), 31.6 (CH₂, C-6), 21.7 (CH₃, C-10), 26.3 (CH₂, C-5)。 (+) -HRESIMS 给出的分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{O}_3$ (m/z 183.1015 $[\text{M}+\text{H}]^+$, calcd. for $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{O}_3$, 183.1016)。上述数据与文献[12]一致, 故鉴定该化合物为 [2*E*, 7*E*]-9-oxo-2,7-decadienoic acid。

化合物 3: 无色粉末。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ_{H} 6.88(1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-1), 5.80(1H, s, H-9), 5.93(1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-2), 4.24(1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-8), 3.87(1H, m, H-7), 2.45(1H, dd, $J_1 = 6.5$ Hz, $J_2 = 13.5$ Hz, H-4), 1.97(1H, dd, $J_1 = 2.5$ Hz, $J_2 = 12.5$ Hz, H-6a), 1.65(1H, t, $J = 12.5$ Hz, H-6b), 1.07(3H, s, H-12), 1.06(3H, s, H-11); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ_{C} 200.8 (C, C-3), 143.8 (CH, C-1), 142.1 (C, C-10), 131.8 (CH, C-9), 127.2 (CH, C-2), 74.4 (CH, C-8), 70.0 (CH, C-7), 53.2 (CH, C-4), 42.0 (CH₂, C-6), 41.2 (C, C-5), 20.1 (CH₃, C-12), 7.2 (CH₃, C-11)。 (+) -HRESIMS 给出的分子式为 $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{O}_3$ (m/z 209.0787 $[\text{M}+\text{H}]^+$, calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{O}_3$, 209.0781)。上述数据与文献[13]报道一致, 故鉴定该化合物为 periconianones H。

化合物 4: 无色粉末。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ_{H} 7.21(1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-9), 6.30(1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-8), 6.53(1H, s, H-1), 6.38(1H, s, H-4), 2.53(1H, dd, $J_1 = 7.0$ Hz, $J_2 = 13.5$ Hz, H-6), 1.25(3H, s, H-11), 1.31(3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-12); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ_{C} 198.6 (C, C-7), 181.1 (C, C-2), 160.8 (C, C-10), 147.3 (C, C-3), 141.6 (CH, C-9), 131.8 (CH, C-8), 125.9 (CH,

C-1), 123.1 (CH, C-4), 50.9 (CH, C-6), 45.2 (C, C-5), 23.4 (CH₃, C-11), 8.2 (CH₃, C-12)。 (+) -HRESIMS 给出的分子式为 $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{O}_3$ (m/z 205.0860 $[\text{M}+\text{H}]^+$, calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{O}_3$, 205.0859)。上述数据与文献[14]报道一致, 故鉴定该化合物为 botryosphaeridione。

化合物 5: 无色油状物。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ_{H} 7.48(1H, m, H-6), 7.56(1H, m, H-4'), 7.63(2H, m, H-6', H-2'), 7.49(2H, m, H-5', H-3'), 6.40(1H, dd, $J_1 = 2.5$ Hz, $J_2 = 9.0$ Hz, H-5), 6.50(1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-3), 4.02(2H, m, H-8), 1.30(2H, m, H-13), 1.26(2H, m, H-11), 1.33(2H, m, H-12), 1.80(2H, m, H-9), 1.46(2H, m, H-10), 1.28(2H, m, H-14), 0.89(3H, s, H-15); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ_{C} 200.1 (C, C-7), 166.3 (C, C-2), 165.8 (C, C-4), 138.3 (C, C-1'), 135.2 (CH, C-6), 131.4 (CH, C-4'), 128.9 (CH, C-6', C-2'), 128.3 (CH, C-5', C-3'), 113.0 (C, C-1), 107.8 (CH, C-5), 101.5 (CH, C-3), 68.5 (CH₂, C-8), 31.8 (CH₂, C-13), 29.3 (CH₂, C-11), 29.2 (CH₂, C-12), 28.9 (CH₂, C-9), 26.0 (CH₂, C-10), 22.7 (CH₂, C-14), 11.4 (CH₃, C-15)。 (+) -HRESIMS 给出的分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{O}_3$ (m/z 327.1961 $[\text{M}+\text{H}]^+$, calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{O}_3$, 327.1955)。上述数据与文献[15]报道一致, 故鉴定该化合物为 2-hydroxy-(4-octyloxy) benzophenone。

2.2 化合物活性测定

化合物 3 对人肝癌细胞 (HepG-2)、人食管癌细胞 (Eca109)、人急性骨髓白血病细胞 (KG-1a)、人前列腺癌细胞 (PC-3) 和人喉癌细胞 (Hep2) 均未显示出细胞毒活性, 仅对人宫颈癌细胞 (Hela) 显示出弱的抑制活性, 其 IC_{50} 值为 $20.5 \mu\text{mol/L}$ (表1)。该结果与文献[13]报道的化合物 periconianones H 对 Hela 显示出弱的细胞毒活性 ($\text{IC}_{50} = 16.5 \mu\text{mol/L}$) 的结果较为一致。

表 1 化合物 3 的细胞毒活性测试结果

Table 1 Cytotoxicity test results of compound 3

化合物 Compound	细胞毒活性 IC_{50} Cytotoxic activity IC_{50} ($\mu\text{mol/L}$)					
	HepG-2	Hela	Eca109	KG-1a	PC-3	Hep2
3	>100	20.5±2.15	>100	>100	>100	>100
Periconianones H ^[13]	—	16.5	—	—	—	—
阿霉素 Doxorubicin	3.34±0.96	0.85±0.00	0.23±0.00	0.72±0.00	1.60±0.16	0.02±0.00

注: “—”代表未检出

Note: “—” represents undetectable

3 结论

本研究对来源于南海北部 2 403 m 深的海底沉积物中 1 株真菌 *Trichobotrys effuse* DFFSCS021 的乙酸乙酯萃取物进行化学成分研究, 从中获得 5 个单体化合物, 分别为 1,3-dimethyluracil (**1**)、[2*E*,7*E*]-9-oxo-2,7-decadienoic acid (**2**)、periconianones H (**3**)、botryosphaeridione (**4**) 和 2-hydroxy-(4-oxetyloxy) benzophenone (**5**), 均为首次从该菌株中分离得到。对化合物 **3** 进行细胞毒活性筛选, 结果表明该化合物对 5 株肿瘤细胞株 HepG-2、Eca109、KG-1a、PC-3 和 Hep2 均未显示出细胞毒活性, 仅对 HeLa 显示弱的抑制活性。另外, 据报道, 化合物 **4** 对双子叶植物莴苣的种子萌发具有显著的抑制活性^[14], 化合物 **2**, **5** 的活性数据未见报道。接下来将对剩余的 4 个化合物进行多种生物活性筛选, 例如抑制种子萌发、抗菌以及抗生物污损等, 以期为进一步研究该菌属的海洋真菌提供活性数据和参考资料。

参考文献

- [1] 宋双, 许佳怡. 海洋来源的曲霉属真菌次级代谢产物及其活性研究进展[J]. 中山大学研究生学刊: 自然科学、医学版, 2015, 36(3): 20-32.
- [2] CARROLL A R, COPP B R, DAVIS R A, et al. Marine natural products [J]. Natural Product Reports, 2019, 36(1): 122-173.
- [3] 张长生, 李文利. 海洋微生物学: 新机遇, 新挑战[J]. 微生物学通报, 2018, 45(9): 1841-1842.
- [4] 曾奇, 仲伟茂, 王发左. 深海来源真菌次级代谢产物研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(3): 501-514.
- [5] 高啸巍, 陈玉婵, 孙章华, 等. 深海真菌 *Acaromyces ingoldii* FS121 次级代谢产物及其细胞毒活性[J]. 中药材, 2017, 40(2): 359-363.
- [6] 马新华, 郑卫敏, 周芳, 等. 2 株深海来源真菌次级代谢产物的研究[J]. 中国海洋药物, 2018, 37(5): 41-46.
- [7] 陈闪冲, 陈玉婵, 李赛妮, 等. 深海真菌 *Phomopsis tersa* 的次级代谢产物及其细胞毒活性研究[J]. 中国海洋药物, 2019, 38(6): 8-14.
- [8] SUN Y L, ZHANG X Y, NONG X H, et al. New antifouling macrodiolides from the deep-sea-derived fungus *Trichobotrys effuse* DFFSCS021 [J]. Tetrahedron Letters, 2016, 57(3): 366-370.
- [9] LAI X T, CAO L X, TAN H M, et al. Fungal communities from methanehydrate-bearing deep-sea marine sediments in South China Sea [J]. The ISME Journal, 2007, 1(8): 756-762.
- [10] SUN Y L, WANG J, WANG Y F, et al. Cytotoxic and antiviral tetramic acid derivatives from the deep-sea-derived fungus *Trichobotrys effuse* DFFSCS021 [J]. Tetrahedron, 2015, 71(49): 9328-9332.
- [11] KHETRAPAL C L, KUNWAR A C. NMR spectra of oriented biologically important molecules. The structure of and the internal rotation in N,N'-dimethyluracil [J]. Journal of Physical Chemistry, 1982, 86(24): 4815-4817.
- [12] PROKSA B, ADAMCOVÁ J, LIPTAJ T, et al. Identification and determination of organic acids in cultivation medium of *Penicillium vermiculatum* Dang [J]. Monatshefte Für Chemie - Chemical Monthly, 1994, 125(6/7): 707-711.
- [13] LIU J M, ZHANG D W, ZHANG M, et al. Eremophilane sesquiterpenes from an endophytic fungus *Periconia* species [J]. Journal of Natural Products, 2016, 79(9): 2229-2235.
- [14] ZHANG L, WANG S Q, LI X J, et al. New insight into the stereochemistry of botryosphaeridione from a *Phoma* endophyte [J]. Journal of Molecular Structure, 2012, 1016: 72-75.
- [15] KHAMIDULLINA E A, PUREVDASH M, USHAKOV I V, et al. Phenolic compounds from *Pinus sibirica* shells [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2005, 41(1): 101-102.

Studies on the Secondary Metabolites of Deep-sea-derived Fungus *Trichobotrys effuse* DFFSCS021

LUO Qinqin¹, CHEN Ziming¹, ZENG Jinfeng², ZENG Ling¹, ZHENG Cuiping², LU Genlan², WANG Liyun², SUN Yulin²

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Lingnan Normal University, Zhanjiang, Guangdong, 524048, China; 2. School of Life Science and Technology, Lingnan Normal University, Zhanjiang, Guangdong, 524048, China)

Abstract: Through a variety of modern spectrum methods, the secondary metabolites of a deep-sea-derived fungus *Trichobotrys effuse* DFFSCS021 were excavated. The chemical components of the fermentation products of this strain were isolated and purified by silica gel, Sephadex LH-20, and semi-preparative reverse-phase HPLC (C18) and other separation techniques. Its chemical structure was identified by nuclear magnetic resonance (NMR), mass spectrometry (MS) and literature comparison. The results showed that a total of 5 monomer compounds were isolated from the fermentation product of the strain and their structures were identified as 1,3-dimethyluracil (**1**), [2*E*, 7*E*]-9-oxo-2,7-decadienoic acid (**2**), periconianones H (**3**), botryosphaeridione (**4**) and 2-hydroxy-(4-octyloxy)benzophenone (**5**). The compounds **1**–**5** were all isolated from this strain for the first time. The experimental results not only enriched the types of chemical components of the genus, but also improved the research value of the deep-sea-derived fungus.

Key words: deep-sea-derived fungus, *Trichobotrys effuse* DFFSCS021, secondary metabolites, structure identification, cytotoxic activity

责任编辑: 陆 雁



微信公众号投稿更便捷

联系电话: 0771-2503923

邮箱: gxkx@gxas.cn

投稿系统网址: <http://gxkx.ijournal.cn/gxkx/ch>